

**KARAKTERISASI AKTIVITAS ENZIM BROMELIN DARI KULIT
NANAS (*Ananas comosus* (L) Merr) YANG DIAMOBILISASI
DENGAN SILIKA GEL DAN CMC**

**CHARACTERIZATION THE ACTIVITY OF BROMELAIN ENZYME
FROM PINEAPPLE SKIN (*Ananas comosus* (L) Merr)
IMMOBILIZED WITH SILICA GEL AND CMC**

Dewi Rachmawati, Eddy Sulistyowati, Togu Gultom

Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari proses amobilisasi enzim bromelin dengan metode ikatan matriks, mengkarakterisasi enzim bromelin mobil dan amobil hasil isolasi yang meliputi pH, suhu, waktu inkubasi, konsentrasi enzim, V_{maks} , K_M , dan kestabilan enzim terhadap lama penyimpanan tertentu.

Penelitian diawali dengan isolasi enzim bromelin dari kulit nanas dengan penambahan alkohol 80% lalu diamobilisasi dengan matriks silika gel dan CMC. Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui karakter enzim bromelin mobil dan amobil yang meliputi pH, suhu, waktu inkubasi optimal, V_{maks} , K_M , dan kestabilan enzim dalam waktu penyimpanan 4 hari. Aktivitas enzim dilakukan dengan metode Anson.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim bromelin mobil dari kulit nanas memiliki pH optimal 7,5 suhu optimal 41°C, waktu inkubasi 10 menit, nilai V_{maks} , dan K_M berturut-turut sebesar 0,6427 mg/ml/menit dan 19,8393 mg/ml. Setelah enzim bromelin diamobilisasi menggunakan silika gel memiliki pH optimal 7, suhu optimal 43°C, waktu inkubasi 15 menit, nilai V_{maks} , dan K_M berturut-turut adalah 0,2469 mg/ml/menit dan 44,0485 mg/ml. Enzim bromelin amobil menggunakan CMC memiliki pH optimal 7, suhu optimal 43°C, waktu inkubasi 15 menit, nilai V_{maks} , dan K_M berturut-turut sebesar 0,5470 mg/ml/menit dan 29,4858 mg/ml. Penentuan pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim dilakukan dengan variasi konsentrasi enzim 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; dan 4,0% b/v. Semakin banyak jumlah enzim, maka aktivitas enzim semakin meningkat. Pengukuran stabilitas enzim bromelin mobil dan amobil dilakukan selama 4 hari. Semakin lama enzim bromelin mobil dan amobil disimpan, maka aktivitasnya semakin menurun. Selama penyimpanan 4 hari aktivitas enzim bromelin amobil silika gel dan CMC menurun sampai 34,05% dan 27,84%.

Kata kunci: amobilisasi, bromelin, kulit nanas, silika gel, CMC

ABSTRACT

This research aims to study the immobilized enzymes by matrix bonding method, characterize the bromelain mobile and immobilization such as pH, temperature, incubation time, enzyme concentration, V_{maks} , K_M , and the stability of the enzyme in certain time.

Firstly, isolate the bromelain from pineapple skin use alcohol 80% and then immobilized with silica gel and CMC matrixs. The characterization due to determine optimum condition of the mobile and immobilized bromelain such as pH, temperature, incubation the optimum time, V_{maks} , K_M , and stability of enzymes within 4 days of storage. Enzyme activity was determined by Anson methods.

The result showed that the optimum conditions of bromelain mobile is pH 7,5, 10 minutes, 41°C, V_{maks} and K_M values of 0,6427 mg/ml/minutes and 19,8393 mg/ml. After the bromelain was immobilized with silica gel the optimum condition turn into pH 7, 15 minutes, 43°C, V_{maks} , and K_M values of 0,2469 mg/ml/minutes and 44,0485 mg/ml. Immobilization of bromelain using CMC has optimum activity in 43°C, 15 minutes, pH of 7,5, V_{maks} and K_M values of 0,5470 mg/ml/minutes and 29,4858 mg/ml. Determination of the effect of enzyme concentration on enzyme activity with various enzyme concentrations of 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, and 4.0%. Increasing the number of enzyme increased the activity of bromelain. The longer it is stored the decreased the bromelain activity. The activity of immobilized bromelain with silica gel and CMC decrease until 34,05% and 27,84% in 4 days.

Keywords: immobilization, bromelain, pineapple skin, silica gel, CMC

PENDAHULUAN

Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai biokatalisator reaksi kimia pada sel makhluk hidup. Penggunaan enzim telah dilakukan pada berbagai bidang industri, baik untuk produk makanan, pertanian, kimia maupun farmasi. Protease merupakan satu diantara tiga kelom-pok

enzim komersial yang diperdagangkan dengan nilai mencapai 60% total penjualan enzim. Enzim protease dapat diisolasi dari tanaman, seperti papain dari getah papaya (*Carica papaya*), bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr), dan fisin dari getah tanaman ficus (*Ficus benjamina* L.).

Saat ini belum banyak usaha untuk mengolah kulit nanas. Bagian buah nanas baik daging, bonggol maupun kulit nanas mengandung enzim bromelin [1]. Pemanfaatan kulit nanas menjadi produk enzim bromelin dipandang dapat memberi nilai ekonomis dan juga mendatangkan keuntungan.

Pada proses yang melibatkan enzim, umumnya menggunakan cara bath yaitu mereaksikan substrat dengan enzim yang telah dilarutkan dalam air, sehingga enzim bercampur dengan substrat [2]. Cara ini memiliki kelemahan karena enzim hanya dapat digunakan sekali.

Salah satu upaya mengatasi kelemahan tersebut adalah melalui amobilisasi enzim yaitu mengikatkan enzim pada bahan pendukung yang tidak larut air. Secara umum, metode amobilisasi enzim dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu metode ikatan dengan matriks, metode ikatan silang, dan metode penjebakan [3]. Beberapa matriks pendukung yang dapat digunakan pada proses amobilisasi enzim antara lain bentonit, karbon aktif, silika gel, gelas berpori, amberlit, dan CMC [4].

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari proses isolasi enzim bromelin dari kulit nanas, amobilisasi enzim menggunakan silika gel dan CMC serta mengetahui aktivitas enzim bromelin mobil dan amobil hasil isolasi.

METODOLOGI

1. Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, Spectronic-20, sentrifuge, Juicer pH-meter, neraca analitik, pipet volume, dan peralatan gelas lainnya.

2. Bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit nanas, alkohol, silika gel 60 (0,2-0,4 mm), CMC, TCA, NaOH, kasein, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, BSA, reagen Folin-Ciocalteu, Na-tartar, $\text{Cu-SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , dan akuades.

3. Cara kerja

Penelitian ini dimulai dengan mengisolasi enzim bromelin dari kulit nanas, kemudian diamobilisasi menggunakan matriks silika gel dan CMC. Selanjutnya mengetahui karakter pH, suhu, waktu inkubasi

optimal, nilai V_{maks} dan K_M , serta pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas enzim bromelin mobil dan amobil. Pengujian kadar protein dilakukan menggunakan metode Lowry dengan standar BSA. Sedangkan pengujian aktivitas enzim dilakukan menggunakan metode Anson dengan substrat kasein [5].

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Kulit Nanas

Pada penelitian ini digunakan sebanyak 1750 gram kulit nanas yang diperoleh dari 5 buah nanas. Kulit nanas dihancurkan sehingga diperoleh sari nanas. Sari nanas yang diperoleh sebanyak 425 ml ditambahkan ke dalam alkohol 80%.

Endapan berbentuk serbuk berwarna hijau kekuningan ini merupakan ekstrak kasar enzim bromelin [6]. Selanjutnya enzim bromelin yang diperoleh diuji kadar proteinnya dengan metode Lowry menggunakan standar protein BSA. Kadar protein yang diperoleh adalah 1.582 mg dalam 300 gram kulit nanas.

2. Optimasi Kondisi Amobilisasi

Kemampuan pengikatan enzim pada silika gel dan CMC dipe-

ngaruhi oleh jumlah pengamobil, waktu, kecepatan homogenisasi, dan jumlah enzim yang digunakan [7]. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengoptimalan kondisi amobilisasi untuk mengetahui kondisi optimal dari proses amobilisasi enzim bromelin menggunakan matriks silika gel dan CMC.

Kondisi optimal pada matriks silika gel dicapai pada kecepatan 6000 rpm selama 45 menit dalam 0,08 gram silika gel. Matriks CMC memiliki kondisi optimal 0,06 gram, waktu 30 menit, dan kecepatan 6000 rpm. Peningkatan jumlah protein terikat pada waktu homogenisasi tertentu kemungkinan disebabkan oleh probabilitas kontak antara enzim dengan matriks semakin tinggi, sehingga kadar protein terikat akan menjadi semakin besar pula. Penurunan jumlah protein terikat pada waktu yang lebih lama dimungkinkan terjadi, karena ikatan antara enzim dengan matriks cukup lemah, sehingga enzim mudah lepas [8]. Perubahan ini akan menunjukkan kondisi optimal kemampuan matriks untuk mengikat enzim.

3. Karakter Enzim Bromelin Mobil dan Amobil

Aktivitas suatu enzim dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, terutama pH dari media dan sifat protein enzim itu sendiri [9]. Enzim bromelin mempunyai aktivitas tertinggi pada pH, suhu, dan waktu inkubasi optimal.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan kondisi optimal sebelum dan setelah amobilisasi (Tabel 2). Proses amobilisasi enzim yang dilakukan menyebabkan terjadinya perubahan suhu optimal. Hal ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan kestabilan enzim mobil dan amobil. Perubahan pH optimal enzim dipengaruhi oleh adanya gugus fungsional dari matriks yang menambah muatan enzim, sehingga enzim amobil lebih bersifat asam dibandingkan dengan enzim sebelum diamobilisasi [10]. Proses amobilisasi dapat meningkatkan stabilitas enzim. Hal ini terlihat dari suhu optimal enzim amobil lebih besar dari pada enzim mobil.

Perbedaan waktu inkubasi disebabkan oleh adanya matriks dalam proses amobilisasi meng-

halangi kontak enzim dengan substrat, sehingga dibutuhkan waktu yang lebih lama untuk membentuk enzim-substrat.

Tabel 2. Hasil Penentuan pH, suhu, dan waktu inkubasi optimal

Enzim	pH	Suhu (°C)	Waktu (menit)
Mobil	7,5	41	10
Amobil silika gel	7	43	15
Amobil CMC	7	43	15

4. Harga V_{maks} dan K_M Enzim Bromelin Mobil dan Amobil

Penentuan harga V_{maks} dan K_M enzim bromelin mobil dilakukan pada pH 7,5; suhu 41°C selama 10 menit. Sedangkan untuk amobil silika gel dan CMC dilakukan pada pH 7, suhu 43°C selama 15 menit. Pada penelitian ini digunakan substrat kasein dengan variasi konsentrasi 10, 20, 40, 60, dan 80 mg/ml. Data rerata aktivitas enzim bromelin mobil, amobil silika gel, dan amobil CMC pada berbagai variasi konsentrasi substrat ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim bromelin mobil dan amobil

Substrat (mg/ml)	Akt. Bromelin Mobil (mg/ml/mnt)	Akt. Bromelin Silika Gel (mg/ml/mnt)	Akt. Bromelin CMC (mg/ml/mnt)
10	0,2143	0,0476	0,1409
20	0,3390	0,0679	0,2090
40	0,3829	0,1041	0,3053
60	0,4714	0,1517	0,3814
80	0,5752	0,2103	0,4224

Penentuan harga V_{maks} dan K_M enzim bromelin mobil dan amobil dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara $1/[S]$ dengan $1/[V]$ kemudian dihitung nilai V_{maks} dan K_M menggunakan persamaan Lineweaver-Burk.

Perbedaan kondisi optimal enzim bromelin sebelum dan sesudah diamobilisasi menggunakan silika gel dan CMC ditunjukkan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Perbedaan Kondisi Optimal Enzim Bromelin Mobil dan Amobil

Enzim Bromelin	V_{maks} (mg/ml/menit)	K_M (mg/ml)
Mobil	0,6427	19,8393
Amobil silika gel	0,2469	44,0485
Amobil CMC	0,5470	29,4858

Hasil perhitungan nilai K_M bromelin amobil mengalami perubahan ke arah yang lebih besar dari pada nilai K_M bromelin mobil. Hal ini dipengaruhi oleh adanya interaksi

elektrostatik antara matriks dengan substrat dan efek difusi substrat di dalam matriks. Perubahan konformasi dari molekul protein enzim dengan gangguan sterik biasanya meningkatkan nilai K_M dan menurunkan afinitas enzim dan substrat.

5. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Aktivitas Enzim Bromelin

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas enzim bromelin mobil dan amobil hasil isolasi. Enzim bromelin mobil dan amobil silika gel dan CMC disimpan selama 4 hari dan selanjutnya dilakukan pengukuran aktivitas pada kondisi pH, suhu, dan waktu inkubasi optimal. Data % stabilitas aktivitas enzim bromelin mobil, amobil silika gel, dan amobil CMC pada berbagai variasi lama penyimpanan ditunjukkan pada Tabel 5. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan aktivitas enzim dalam waktu penyimpanan 0 – 4 hari. Kestabilan ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan terutama gugus fungsi reaktif enzim. Penggunaan matriks pengamobil baik silika gel maupun CMC kurang

mampu mempertahankan stabilitas enzim. Hal ini ditunjukkan dari gambar bahwa pada penyimpanan 0 – 2 hari terjadi penurunan aktivitas atau perubahan struktur enzim yang relatif kecil, namun setelah penyimpanan hari ke-4 terjadi penurunan aktivitas yang cukup besar.

Tabel 4. Pengaruh lama penyimpanan terhadap kestabilan aktivitas enzim bromelin mobil dan amobil

Hari ke-	% Stabilitas Bromelin Mobil	% Stabilitas Bromelin Amobil Silika Gel	% Stabilitas Bromelin Amobil CMC
0	100,00	100,00	100,00
1	85,08	91,99	98,16
2	69,39	80,56	95,34
3	24,20	41,93	30,99
4	17,85	34,05	27,84

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa enzim bromelin dari kulit nanas dapat diamobilisasi dengan metode ikatan matriks menggunakan silika gel dan CMC. Kondisi optimal dari enzim bromelin mobil hasil isolasi adalah pH 7,5, suhu 41°C, dan waktu inkubasi 10 menit. Harga V_{maks} dan K_M enzim bromelin

mobil berturut-turut adalah 0,6427 mg/ml/menit dan 19,8393. Kondisi optimal dari enzim bromelin amobil silika gel dan adalah pH 7; suhu 43°C; dan waktu inkubasi 15 menit. Harga V_{maks} dan K_M enzim bromelin amobil silika gel berturut-turut adalah 0,2469 mg/ml/menit dan 44,0485 mg/ml. Kondisi optimal dari enzim bromelin amobil CMC dan adalah pH 7; suhu 43°C; dan waktu inkubasi 15 menit. Harga V_{maks} dan K_M enzim bromelin amobil CMC berturut-turut adalah 0,5470 mg/ml/menit dan 29,4858 mg/ml.

. Adanya pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas enzim bromelin mobil dan amobil dari kulit nanas. Semakin lama waktu penyimpanan maka aktivitas enzim semakin menurun.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjut tentang pengaruh penggulungan pemakaian enzim bromelin amobil terhadap aktivitas enzim bromelin serta teknik amobilisasi enzim bromelin menggunakan matriks pengamobil lain yang lebih stabil dan bermanfaat bagi industri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ibu Eddy Sulistyowati, Apt. MS dan Bapak Togu Gultom, M.Pd, M.Si, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan motivasi dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan laporan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Endyah Murniati. (2006). *Sang Nanas Bersisik Manis di Lidah*. Surabaya: SI, p. 17-19.
- [2]. Khrisna Stefanus. (2010). Kitosan sebagai Matriks Pendukung Amobilisasi Papain. *Prosiding Tugas Akhir Semester Genap 2010/2011*. Surabaya: ITS.
- [3]. Sasmito. (1990). *Enzim Amobil*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM, p. 9-12.
- [4]. Chibata, I. (1978). *Immobilixe Enzymes Research and Development*. Tokyo: Kodansha, p. 20.
- [5]. Nuniek Herdyastuti. (2006). Isolasi dan Karakterisasi Enzim Bromelin dari Batang Nanas (*Ananas comosus*). *Jurnal Penelitian Hayati*. 2(12) :75-77.
- [6]. Firman Sebayang. (2006). Pengujian Stabilitas Enzim Bromelin yang dari Bonggol Nanas Serta Imobilisasai menggunakan Kappa Karagenan. *Jurnal Komunikasi Penelitian*. 18(2):34-38.
- [7]. Mujiyanto. (2009). Amobilisasi Enzim Invertase dengan Metode Adsorpsi Fisik Menggunakan Silika Gel. *Skripsi*. UNY: Jurdik Kimia FMIPA.
- [8]. Marta Widyanti. (2012). Amobilisasi Pektinase dari *Bacillus subtilis* menggunakan Matriks Pasir Laut Teraktivasi HCl. *Kimia Student Journal*. 1(2): 215-221.
- [9]. Ketnawa, S. (2009). Partitioning of Bromelain from Pineapple Peel by Aqueous Two Phase System. *Asian Jurnal of Food Ag-Industry*. 2(04): 457-468 .
- [10]. Devi Susanti. (2011). Amobilisasi Enzim α -Amilase dari *Bacillus Subtilis* ITBCCB 148 menggunakan CMC. *Modern Applied Science*. 6(3): 81-86.
- [11]. Ade Amalia. (2010). Amobilisasi Bromelin dengan Menggunakan Kitosan sebagai Matriks Pendukung. *Skripsi*. ITS: FMIPA.

Artikel ini telah disetujui untuk
diterbitkan oleh Pembimbing Utama
pada tanggal 3 Juli 2013



Eddy Sulistyowati, Apt., MS
NIP. 19520610 198203 2 001

Artikel ini telah direview oleh
Penguji Utama pada tanggal 4 Juli
2013



Dr. Das Salirawati, M.Si
NIP. 19651016 199203 2 001